

Über die Organbildung an in vitro kultiviertem Knollengewebe von *Solanum tuberosum*

Inaugural-Dissertation

der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
GÜNTER FELLEBERG
aus Hamburg

1962

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
1963

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 28. November 1962.

Dekan: Universitätsprofessor Dr. Helmut Volz

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. Erik Haustein

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. Julius Schwemmler



Sonderdruck aus: Zeitschrift für Botanik, Band 51

Über die Organbildung an in vitro kultiviertem Knollengewebe von *Solanum tuberosum*

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen)

Von

GÜNTER FELLEBERG

Mit 10 Abbildungen

Eingegangen am 13. März 1963



Einleitung

Die vergleichenden Untersuchungen WURMS (1960) an verschiedenen Speicherorganen ließen erkennen, daß auch Gewebe gleicher Funktion unterschiedlich auf Wuchsstoffe, Vitamine und Purine reagieren. An der Kartoffel traten zudem bei der Organbildung noch Unterschiede im Laufe eines Jahres auf, die WURM auf eine endogene Rhythmik der Kartoffel zurückführte. Das hieße, daß in der Kartoffelknolle im Verlauf eines Jahres Schwankungen in Gehalt an aktivem Wuchsstoff auftreten müßten. Tatsächlich wurde durch eine Reihe von Untersuchungen festgestellt, daß im Herbst ein hoher Hemmstoffgehalt die Knollen am Austreiben hindert und daß nach Abbau der Hemmstoffe und nach Aufbau der Wuchsstoffe das Austreiben der Augen erfolgt (FUNKE-SÖDING 1948/49; MEYER 1950/51; BAUMEISTER 1950/51). Wie weit sich diese physiologischen Zustandsänderungen auch auf Neubildungsvorgänge an Segmenten aus dem Speichergewebe auswirken, sollte mit Hilfe von Gewebekulturen untersucht werden. Durch künstliche Zufuhr von Wuchsstoffen und Vitaminen sollte ferner versucht werden die Organbildung zu beeinflussen.

Material und Methode

Als Versuchsobjekt wurde die Kartoffelsorte „Eva“ verwendet. Bei den zum Schluß angeführten Vergleichsversuchen mit anderen Sorten werden diese jeweils namentlich angeführt.

Die Methode lehnt sich weitgehend an die von WURM (1960) an. Die Zusammensetzung der Nährlösung wurde unverändert übernommen. Alle Vitamine und Wachstumsstoffe wurden nach der Sterilisation der Nährlösung zugesetzt und dann nochmals 10 min bei 0,5 atü im Autoklaven nachsterilisiert. Nur Kinetin wurde 5 min bei 0,2 atü nachsterilisiert.

Die Knollen wurden vor Versuchsbeginn 12 Std lang in eine 0,02 %ige HgCl_2 -Lösung gelegt. Die Arbeiten in der Impfkabine wurden nach den Angaben von MAYER (1956) und WURM (1960) ausgeführt.

Die Segmente einer Knolle wurden nicht jeweils nur für eine einzige Konzentrationsreihe verwendet, sondern auf alle zu vergleichenden Konzentrationsreihen gleichmäßig verteilt, um damit mögliche individuelle Unterschiede der Knollen auszuschalten. Für die Auswertung der Versuche war nicht die pro Segment des ganzen Ansatzes ermittelte Organzahl maßgebend (WURM 1960), sondern die pro Segment der nicht befallenen Kulturen, da befallene Kulturen auch dann verworfen wurden, wenn sie Organe bildeten. Die Kulturdauer betrug durchweg 4 Monate. Es wurden folgende Stoffe und Konzentrationen untersucht:

α -Naphthylessigsäure (K-Salz)	: 0,01; 0,1; 1; 10 mg/l
β -Indolylessigsäure	: 0,01; 0,1; 1; 10 mg/l
β -Indolylacetonitril	: 0,01; 0,1; 1; 10; 50 mg/l
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure	: 0,01; 0,1; 1; 10 mg/l
Tryptophan	: 0,1; 1; 10; 100; 200 mg/l
Adenin	: 10; 20; 40; 80; 160 mg/l
Kinetin	: 0,5; 1; 2 mg/l
Guanin-HCl	: 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 5; 10 mg/l
Biotin	: 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 5; 10 mg/l
Nicotinsäure	: 10; 20; 40; 60; 80; 100; 120 mg/l
Pantothensäure (Ca-Salz)	: 1; 10; 20; 40; 60; 80; 100 mg/l

Ergebnisse

Es stellte sich bald heraus, daß die Sproß- und Wurzelbildung, wie sie WURM (1960) bei der Kartoffel erzielte, nicht ohne weiteres reproduzierbar war. Sprosse und Wurzeln entstanden oft in so geringer Anzahl, daß sie für eine Auswertung nicht genügten. Für die Fortführung der Arbeiten boten sich daher zwei Wege an. 1. Die Versuche werden mit der gleichen Kartoffelsorte fortgesetzt. Zur Auswertung müssen jedoch Faktoren gesucht werden, die zahlenmäßig besser faßbar sind als die neugebildeten Organe. 2. Eine größere Anzahl verschiedener Sorten muß vergleichsweise getestet werden um zu sehen,

ob es Sorten mit höherer Wurzel- und Sproßbildungsrate gibt. Beide Wege wurden schließlich beschritten. Zunächst wurde jedoch die Sorte „Eva“ weiterkultiviert, da sich ein neuer Faktor für die Auswertung finden ließ.

Die Kartoffelsegmente bilden nämlich, wie bereits bei WURM (1960) angedeutet wurde, meist eine größere Zahl bulböser Anschwellungen, die weiterhin kurz als Knöllchen bezeichnet werden sollen (Abb. 1). Untersucht man

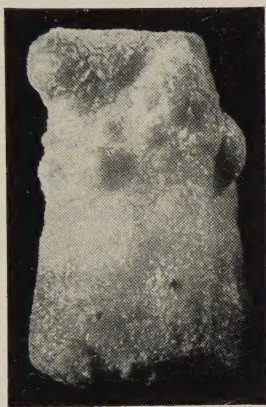


Abb. 1: Knöllchenbildung.

Knöllchenquerschnitt (halbschematisch)



ein Knöllchen histologisch, so findet man ein mehr oder minder dichtes Knäuel von Leitbündelelementen, die aus Tracheen und, oft etwas zerdrückten, Siebröhren bestehen (Abb. 2). Zuweilen wachsen aus den Knöllchen nach mehr-

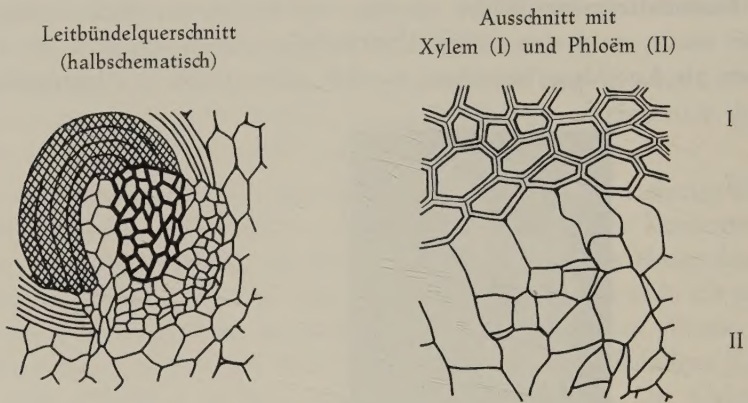


Abb. 2: Querschnitte durch Knöllchen.

monatigem Stehen Wurzeln heraus, in einigen Fällen auch Sprosse (Abb. 3). Bei einigen Knöllchen, die Wurzeln hervorgebracht hatten, konnte festgestellt werden, daß die aufgeknäuelten Leitbündel durch Neubildung eines Leitbündelstranges oder durch Anschluß an Reste der ehemaligen Leitbahnen der Knolle, Kontakt mit weiteren Bereichen des Segments erhielten. Bemerkens-

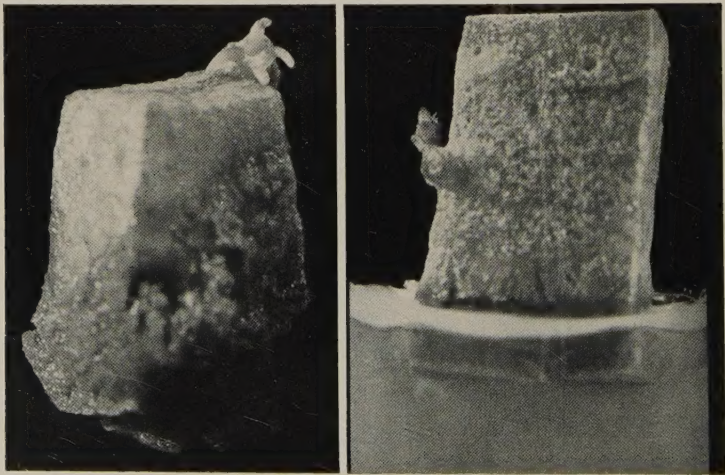


Abb. 3: a) Wurzelbildung an einem Knöllchen,
b) Sproßbildung an einem Knöllchen.

wert ist die Tatsache, daß diese Gebilde, die bereits Leitbündelelemente besitzen, jedoch meist indifferent weiterexistieren können. Diese Frage wird später noch eingehender an Hand eines Versuches behandelt.

Jahreszeitliches Verhalten

Die Kartoffeln wurden in zwei getrennten Portionen in einem kühlen Kartoffelkeller gelagert. Der eine Teil blieb unbehandelt, der andere Teil wurde, um ein zu rasches Austreiben zu verhindern, mit Tixit, einem Derivat der Phenylcarbaminsäure, bestreut. In der Zeit von Oktober bis Mai wurde allmonatlich ein Teil mit α -Naphthyllessigsäure (NES) als Wachstoffsstoff in Kultur genommen.

Der Bakterien- und Pilzbefall der Kulturen schwankte normalerweise zwischen 0 und 20 %. Von Mai an stieg der Befall der Kulturen auf 70–100 %, so daß die Versuche abgebrochen werden mußten.

Die Segmente der unbehandelten Kontrollen (Knollen ohne Tixitbehandlung) bildeten bei den Wachstoffsstoffkonzentrationen 1 und 10 mg/l nahezu die ganze Zeit von Oktober bis Mai Wurzeln (Abb. 4). Bei 0,1 mg/l traten Wurzeln höchstens sporadisch auf, weswegen sie in der graphischen Darstellung unberücksichtigt blieben. Der Verlauf der Kurven für Wurzelbildung zeigt zunächst eine Anfangshemmung. Im November und Dezember wird ein erstes Maximum erreicht. Darauf folgt ein Minimum im Januar und ein weiteres, wenig ausgeprägtes Maximum im Februar. Danach sinken die Kurven rasch ab; lediglich im Mai wird bei 0,1 mg/l nochmals eine erhöhte Wurzelbildung erzielt. Die Sproßbildung wird auf die Monate März und Mai beschränkt, wenn man von einem gelegentlichen Auftreten einzelner Sprosse in der ganzen Zeit von Februar bis Mai absieht. Während im März Sproßbildung bei der Kontrolle und bei 0,1 mg/l NES auftritt, erfolgt sie im Mai nur bei 1 mg/l. Die Knöllchenbildung nimmt, von einigen geringfügigen Ausnahmen abgesehen, mit steigender Konzentration zu. Sie setzt aber erst im November ein, also einen Monat später als die Wurzelbildung. Die Minima der Knöllchenbildung fallen mit den Maxima der Wurzel- und Sproßbildung zusammen.

Bei den mit Tixit behandelten Kartoffeln zeigen die Kurven für Organ- und Knöllchenbildung den gleichen Rhythmus wie bei den unbehandelten Knollensegmenten (Abb. 5). Nur im März ist zusätzlich ein Minimum der Wurzelbildung festzustellen. Die Höhe der Tixit-Kurven ist jedoch stark gedämpft, wobei die Dämpfung um so deutlicher sichtbar wird, je länger das Tixit einwirkt. Außerdem wird bei der Wurzelbildung die Anfangshemmung

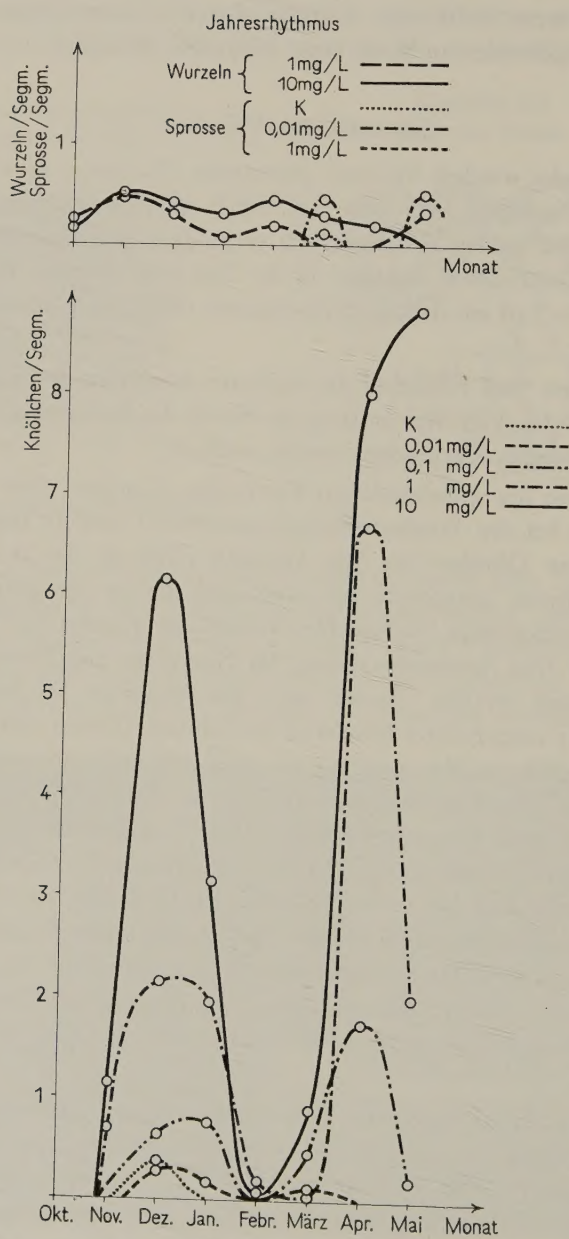


Abb. 4: Kurven zum Jahresrhythmus gelagerter Kartoffelknollen.

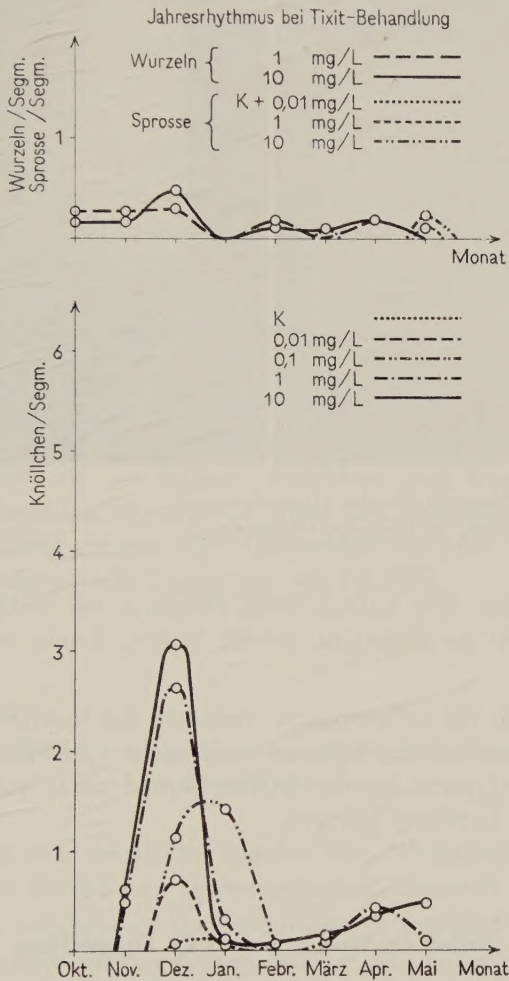


Abb. 5: Kurven zum Jahresrhythmus gelagerter Kartoffelknollen bei Tixit-Behandlung.

um etwa einen Monat verlängert, so daß hier erst im Dezember die Kurve ansteigt.

Gemeinsam ist beiden Versuchsreihen die Art der Kallusbildung. Anfangs wird er noch deutlich unterdrückt (Abb. 6). Er entsteht nur bei den hohen Konzentrationen (1 und 10 mg/l). Nach einem Monat wird üppiger Kallus gebildet, der nun zusätzlich bereits bei 0,1 mg/l bei einer Anzahl von

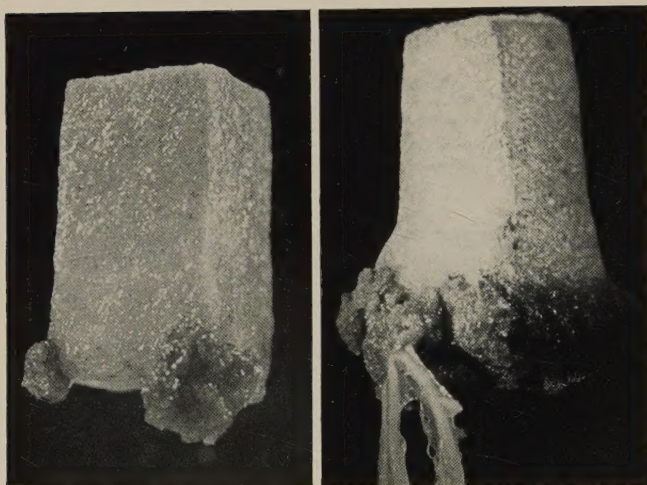


Abb. 6: a) Kallusbildung im Oktober (Hemmform),
b) Kallusbildung ab Dezember (Normalform).

Segmenten auftritt. Die Kallusbildung unterliegt im Verlauf eines Jahres, wenigstens soweit es untersucht werden konnte, keinen weiteren Schwankungen.

Die Kurven für das jahreszeitliche Verhalten der Kartoffeln machen deutlich, daß eigentlich nur die Kulturen miteinander verglichen werden dürfen, die gleichzeitig angesetzt wurden. Diesem Befund wurde auch bei allen weiteren Versuchen Rechnung getragen.

Einfluß der Wuchsstoffe auf die Organbildung

1. Vergleich von α -Naphthylelessigsäure, β -Indolylessigsäure, β -Indolylacetonitril, 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure und Tryptophan.

Von diesen 5 Wuchsstoffen riefen NES, IES, 2,4-D und IAN Kallusbildung hervor. Die Stärke der Kallusbildung sinkt in der angegebenen Reihenfolge. Bei NES und IES setzt sie teilweise bereits bei 0,1 mg/l ein, bei 2,4-D und IAN erst bei 10 mg/l. Tryptophan blieb ohne sichtbare Wirkung.

Die Häufigkeit der Knöllchenbildung nimmt in der Reihenfolge NES, IES, IAN, 2,4-D und Tryptophan ab. Tryptophan und 2,4-D vermögen nur wenig Knöllchen auszubilden.

Wurzeln entstanden nur bei NES und IES. Sie werden jedoch nur bei hohen Wuchsstoffkonzentrationen gebildet, also bei 1 mg/l und bei 10 mg/l. Bei niedrigen Konzentrationen (unter 0,1 mg/l) ist in der Regel keine Wurzelbildung mehr möglich.

Sprosse können von NES, IES und IAN gebildet werden. Bei IES wurde einmal bei 10 mg/l ein Sproß gebildet, IAN vermag bis hinauf zu 50 mg/l noch Sprosse zu bilden. Trotzdem überwiegt insgesamt die Sproßbildung bei den Kontrollen und bei niedrigen Wuchsstoffkonzentrationen (0,01 mg/l), wenn man von den Monaten April und Mai absieht. Die Sproßbildung läßt sich also nicht bestimmten Wuchsstoffkonzentrationen zuordnen wie es für die Wurzelbildung möglich war, oder wie es STICHEL (1959) bei *Cyclamen* für die Wurzel- und Sproßbildung vornehmen konnte.

Um die Monatswende Oktober-November treten krasse Unterschiede zwischen NES und IES bei der Kallus-, Knöllchen- und Organbildung auf. IES vermag, im Gegensatz zur NES, in dieser Zeit überhaupt keine Organe zu bilden. Im Frühjahr nehmen diese Unterschiede merklich ab, und die IES bildet annähernd ebensoviele Organe aus wie die NES.

2. Vergleich von α -Naphthylelessigsäure, β -Indolylessigsäure, β -Indolylacetonitril in Dunkelkultur.

Gewebesegmente in Dunkelkultur scheiden mehr Wuchsstoff ab als in Hellkultur. Das zeigten Versuche an *Lycopersicon* und *Nicotiana* (v. GUTTENBERG 1956). Somit sind insbesondere Dunkelkulturen als Kombinationen künstlich zugesetzter Wuchsstoffe mit den nativen Wuchsstoffen aufzufassen. Im Herbst wurden bei Dunkelkulturen nur mit NES und IAN die Wurzelbildung gesteigert, das heißt, bei IAN traten erstmals Wurzeln auf. Die Knöllchenbildung wurde bei NES und IES gefördert. Von Dezember an wird in Dunkelkultur die Wurzelbildung von IES ebenso stark gefördert wie von NES.

Die Wurzelbildung zeigt in Dunkelkultur eine einfache Maximumskurve wie auch in Hellkultur. Die Knöllchenbildung dagegen zeigt, besonders bei NES und IAN, einen völlig anderen Verlauf als im Licht. Die Maxima der Wurzelbildung fallen wieder mit einem Minimum der Knöllchenbildung zusammen (Abb. 7).

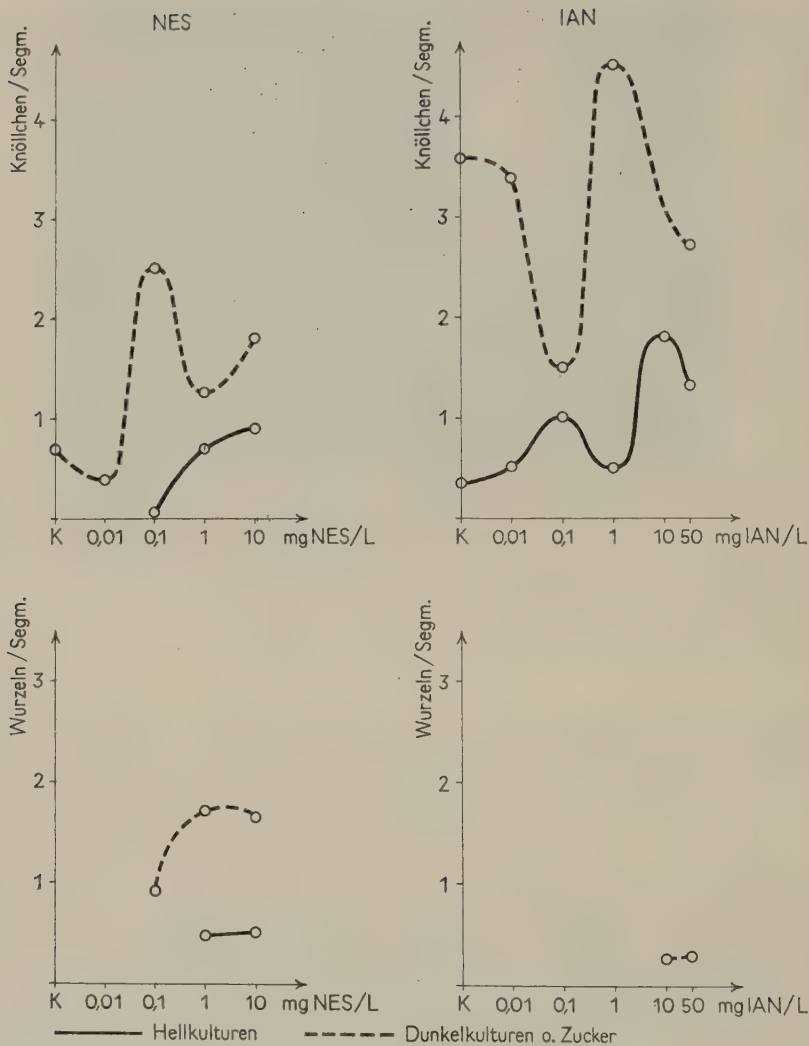


Abb. 7: Kurven zum Vergleich von Hell- und Dunkelkulturen.

3. Kombination von α -Naphthylelessigsäure und β -Indolylessigsäure mit β -Indolylacetonitril.

Bei Hellkulturen sollte nun nochmals das Zusammenwirken eines synthetischen und eines segmenteigenen Wuchsstoffes (NES und IAN) und die Kombination zweier nativer Wuchsstoffe (IES und IAN) (VARGA und FERENCZY 1956) überprüft werden.

Die Knöllchenbildung steigt bei den Kombinationen mit NES mit steigender NES-Konzentration an. Bei den Kombinationen mit IES zeigt sich nur ein sehr geringer Einfluß der IES auf die Höhe der Knöllchenkurve (Abb. 8). Wurzelbildung trat nur bei der Kombination mit NES im Bereich von 1 mg/l

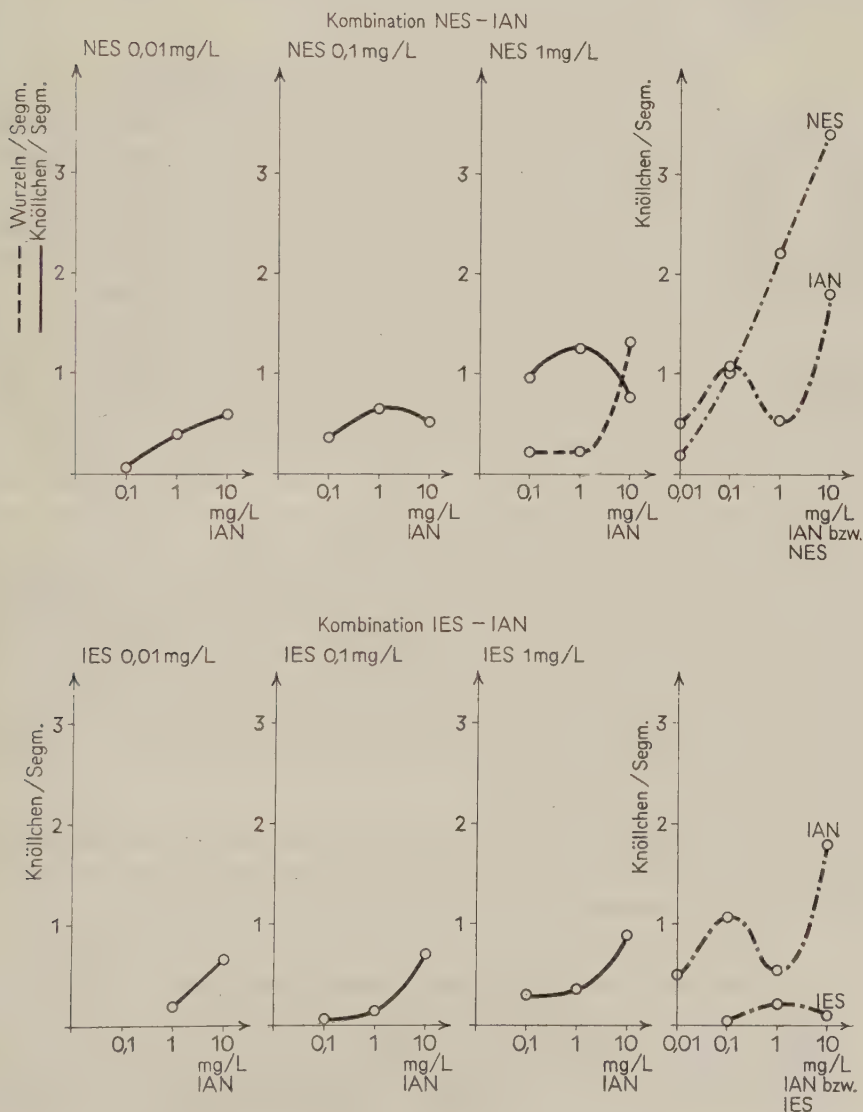


Abb. 8: Kombinationen von NES mit IAN und IES mit IAN.

NES auf. Bei der Kombination NES 1 mg/l und IAN 10 mg/l liegt die Wurzelbildung (1,29 Wurzeln pro Segment) weit höher als bei NES 1 mg/l allein (0,06 Wurzeln pro Segment). Das Maximum der Wurzelbildung fällt hier wieder mit einem Minimum der Knöllchenbildung zusammen (Abb. 8). Die Kallusbildung richtet sich allein nach der Konzentration der Wuchsstoffe, die auch im Einzelversuch Kallus erzeugen.

4. Regenerationsbereitschaft in Abhängigkeit vom Zucker.

Allgemein können nur grüne Pflanzenteile längere Zeit auf zuckerlosem Nährmedium kultiviert werden, da sie in Hellkultur ihren Kohlehydratbedarf selbst decken können. Die Kartoffel speichert nun aber viel Stärke und ein Teil davon (ca. 1,5 %) liegen bereits als Zucker vor (FISCHNICH und HEILIGER 1959). Deshalb sollten auch Kartoffelsegmente in Hell- und Dunkelkultur mit NES, IES und IAN auf zuckerlosem Nährmedium kultiviert werden.

Zunächst konnte man feststellen, daß auch die Dunkelkulturen die volle Kulturdauer von 4 Monaten überlebten, lediglich Dunkelkulturen mit 20 mg/l NES trockneten ein und wurden braun, ohne die Reservestärke in größerem Umfang abzubauen. Alle zuckerlosen Kulturen zeigten jedoch ein unerwartetes Ergebnis: Die Kallusbildung wurde, auch bei hohen Wuchsstoffkonzentrationen, nahezu vollständig unterdrückt, dagegen stieg die Wurzelbildung auf nahezu den 10fachen Betrag der NES-Kontrollen mit Zucker an und erreichte mit 2 Wurzeln pro Segment, bei 1 mg/l NES, die höchste Wurzelquote, die bei „Eva“ mit Wuchsstoff allein erzielt wurde. Die Kultur auf zuckerlosem Medium kann man für alle drei untersuchten Wuchsstoffe als optimal für die Wurzel- und Knöllchenbildung bezeichnen. Das Maximum der Wurzelbildung fällt wieder mit einem Minimum der Knöllchenbildung zusammen, soweit es sich um Dunkelkulturen handelt. Bei Hellkulturen ist diese Erscheinung nicht immer eindeutig.

Wird die Glucosekonzentration der Nährlösung von 20 g/l auf 36 g/l (= 0,2 mol) erhöht, so nimmt die Kallusbildung deutlich zu, die Wurzel- und Knöllchenbildung dagegen ab.

5. Begrenzte Einwirkungsdauer von Wuchsstoffen auf das Gewebe.

Bereits STICHEL (1959) unternahm einen Versuch bei *Cyclamen* die Einwirkungsdauer der Wuchsstoffe zu begrenzen. Bei der Kartoffel wurde nun in einem ähnlichen Versuch so vorgegangen, daß die Segmente zwei Tage lang in sterilen und verdunkelten Petrischalen auf Filtrierpapier gelegt wurden, das

mit einer zucker- und wuchsstoffhaltigen Lösung getränkt war. Anschließend wurden die Segmente auf zucker- und wuchsstoffleeren Agar gesetzt. Dabei wurden nur bei 10 mg/l NES reichlich Wurzeln gebildet. IES induzierte keine Wurzeln. Knöllchen wurden überall reichlich angelegt. Kallus bildete sich überhaupt nicht.

6. Einfluß der Temperatur auf die Organbildung.

NES und IES wurden jeweils in einer Konzentration von 0,1 mg/l in Dunkelkultur getestet. Bei 5 °C wurden keine Wurzeln mehr gebildet. Die Segmente waren von einem dünnen, feinen Kallus ganz überzogen. Die Wurzelbildung blieb auch dann aus, wenn die Kulturen zunächst 5 Tage warm standen und somit die Wuchsstoffaufnahme nicht behindert werden konnte. Wurde die Kältebehandlung nach zwei Monaten abgebrochen, so ließ sich auch bei Zimmertemperatur keine Organbildung mehr induzieren. Bei anfänglich 5tägiger Kältebehandlung und anschließender Warmkultur wurde die Wurzelbildung nur schwach, die Knöllchenbildung gar nicht, gegenüber der Warmkontrolle, beeinträchtigt. Die Knöllchenbildung bei Kältekulturen ist mit NES sehr gering, mit IES bleibt sie ganz aus.

7. Rinditebehandlung.

VARGA und FERENCZY (1956) stellten nach einer Rinditebehandlung von Kartoffelknollen fest, daß nach einer 48stündigen Begasung der knollen-eigene Hemmstoff abgebaut und die nativen Wuchsstoffe aufgebaut werden. Nach 5 Tagen war das Maximum erreicht, ein Zustand, der bei normaler Lagerung erst nach 4 Wochen eintritt. Demzufolge müßte bei frischen Knollen nach einer Rinditebehandlung die Knöllchen- und Wurzelbildung ebenfalls so hoch liegen wie nach 4wöchiger Lagerung. Die Kartoffeln wurden für diesen Versuch unzerschnitten unter einer Glasglocke von 6 l Inhalt mit ca. 30 mg Rindite 48 Stunden begast. Der eine Teil wurde sofort mit NES in Kultur genommen (Teil I), der andere Teil erst nach weiteren drei Tagen Lagerung (Teil II). Die Ergebnisse entsprachen jedoch nicht den Erwartungen. Teil I zeigte neben einem üppigen Kalluswuchs ein einziges Knöllchen und keine Wurzel. Teil II wies neben einem übernormal kräftigen Kallus nun auch einige Wurzeln auf, deren Maximum von 0,3 Wurzeln pro Segment noch deutlich unter dem Maximum von 0,5 Wurzeln pro Segment nach 4 Wochen normaler Lagerung lag. Die Knöllchenbildung fiel noch weit geringer aus im Vergleich zur NES-Kontrolle nach 4 Wochen.

8. Behandlung mit H_2O_2 .

Mit H_2O_2 kann man die nativen Wuchsstoffe und Hemmstoffe der Kartoffel zum größten Teil zerstören (MEYER 1950/51; BAUMEISTER 1950/51). Deshalb wurden Segmente vor der Kultivierung mit 1,5- und 3 %igem H_2O_2 behandelt. Als Ergebnis wäre zu erwarten, daß die mit H_2O_2 behandelten Kulturen nahezu indifferent bleiben. Mit Wuchsstoff kultiviert, müßten sie jedoch Kallus, Knöllchen und Wurzeln bilden, wie sonst auch. Als Wuchsstoff wurde, wie bei der Rinditebehandlung auch, NES in der Konzentration 1 mg/l verwendet. Das tatsächliche Ergebnis sah nun folgendermaßen aus. Die mit H_2O_2 behandelten Segmente blieben tatsächlich indifferent. Auf Wuchsstoffagar kultiviert, bildeten sie normalen Kallus; Knöllchen wurden nicht gebildet. Bei allen behandelten Kulturen färbte sich die Segmentoberfläche braun. Die vergleichsweise angesetzten NES-Kontrollen bildeten, wie üblich, Kallus und Knöllchen; Wurzeln wurden wegen der fortgeschrittenen Jahreszeit nicht induziert. Das von den Erwartungen abweichende Ergebnis kann nicht damit erklärt werden, daß die Segmente in eine Flüssigkeit getaucht wurden, die eventuell bestimmte Stoffe herausgelöst haben könnte, denn in Wasser gewaschene Segmente können sowohl Knöllchen als auch Wurzeln bilden.

9. Versuche zum Austreiben der Knöllchen.

Die Zweifel, die man auf Grund der bisherigen Versuche an der alleinigen Wirksamkeit der NES bei der Organ- (STICHEL 1959) und Knöllchenbildung haben muß, wurden in einem Versuch überprüft, bei dem Segmente mit Knöllchen als Ausgangsobjekte benutzt wurden. Dazu wurden Segmente mit Knöllchen verwendet, die aus NES-, Guanin-HCl- und Pantothensäurekulturen stammten, um gleichzeitig etwaige Unterschiede der Knöllchen, die sich aus der Vorbehandlung ergeben könnten, zu erfassen. Wenn NES wirklich organdifferenzierend und organdeterminierend wirkt, dann wäre zu erwarten, daß bei geeigneter Wuchsstoffzufuhr, je nach der NES-Konzentration, aus den Knöllchen Wurzeln oder Sprosse herauswachsen. Der Wuchsstoff wurde auf drei verschiedene Arten verabreicht.

- a. Die Segmente wurden auf frischen Wuchsstoffagar umgesetzt, wobei teilweise der bereits vorhandene Kallus vorher entfernt wurde.
- b. Die Knöllchen wurden aus dem Gewebe isoliert und auf Wuchsstoffagar gebracht.
- c. Die Segmente verblieben auf dem alten Nährboden und wurden mit einer Spritzpistole, deren Düse etwas verändert wurde, mit Wuchsstoff besprüht.

Zum Teil wurde ein Gemisch von Wuchsstofflösung und 0,2 molarer Zuckerlösung aufgesprüht.

Das Ergebnis sah überall gleich aus. Bis auf die isolierten Knöllchen, die bald abstarben, blieben alle 650 behandelten Kulturen unverändert. Ein direkter Einfluß auf die Determinierung der Knöllchen zu Sproß oder Wurzel kann demnach der NES nicht zukommen.

10. Segmentgröße und Organbildung.

Sehr kleine Gewebestücke lassen sich zuweilen viel schlechter zu Neubildungen anregen als große. Um die Gültigkeit dieser Erscheinung für die Kartoffel zu untersuchen, wurden Segmente von der Größe $8 \times 8 \times 10$ mm, $5 \times 5 \times 10$ mm, $3 \times 3 \times 10$ mm und $3 \times 3 \times 5$ mm kultiviert. Die kleinen Segmente zeigten sich empfindlicher gegenüber Wuchsstoff als die großen Segmente, das heißt, sie bekamen schon bei 0,1 mg/l NES zu 100 % kräftigen Kallus, während die großen Segmente nur zu 30 % sehr dürrtigen Kallus entwickelten. Dagegen bildeten nur die Segmente von $5 \times 5 \times 10$ mm und $8 \times 8 \times 10$ mm in Hell- und Dunkelkultur Knöllchen aus. Die größten Segmente wiesen auch eindeutig die meisten Knöllchen auf. Die Wurzelbildung verlief im Licht uneinheitlich. Die kleinsten Segmente bildeten keine Wurzeln. In Dunkelkultur entstanden bei allen Segmentgrößen nahezu gleichviele Wurzeln.

Vitamine und Purine

1. Einzelwirkung

Adenin, Kinetin, Guanin-HCl, Pantothersäure, Nicotinsäure und Biotin zeigten weder im Frühjahr noch im Herbst eine deutliche Wirkung. In Dunkelkultur war die Knöllchenbildung bei Adenin nur wenig höher als im Licht. Der einzige dabei entstandene Sproß ist als Zufallstreffer zu werten. Kinetin regte dagegen in Dunkelkultur zu einer beträchtlichen Knöllchenbildung an.

2. Kombinationen

Da insbesondere Dunkelkulturen, wie bereits berichtet, als Kombination der künstlich zugesetzten Wirkstoffe mit den nativen Wuchsstoffen aufzufassen sind, versprochen Kombinationen von Kinetin mit NES den größten Erfolg. Die Knöllchenbildung übertraf bei einer solchen Kombination auch wirklich den Wert der Kinetinkultur bei Dunkelheit und den der NES-Kontrolle um ein Vielfaches. Bei allen Kombinationen mit 1 mg/l NES wurde auch die Wurzelbildung erheblich gesteigert, wobei wieder einmal deren

Maximum mit einem Minimum der Knöllchenbildung zusammenfiel (Abb. 9). Die Knöllchen der NES-Kinetin-Kulturen unterscheiden sich jedoch von denen der NES-Kulturen dadurch, daß sie nur zu einem kleinen Teil Leitbündel-elemente enthalten. Häufig bestehen sie nur aus einem festen, intensiv er-

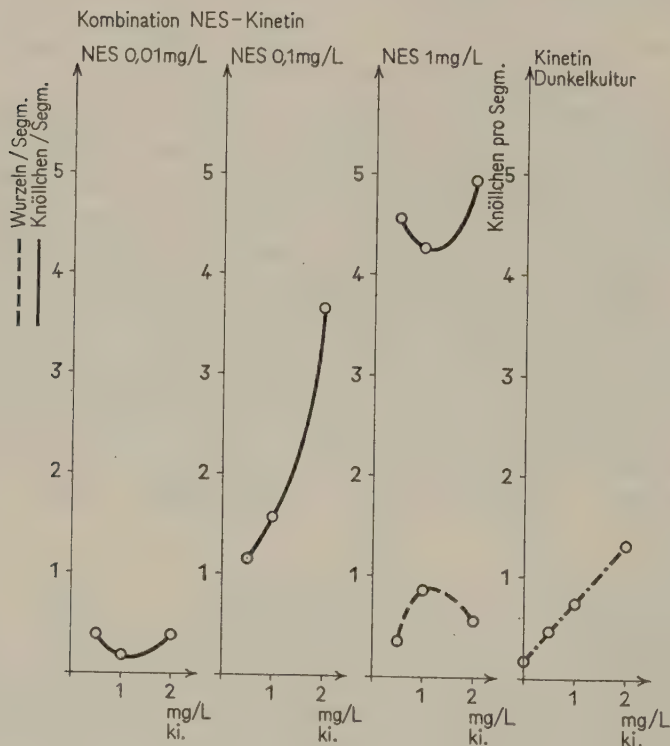


Abb. 9: Kombinationswirkung von NES und Kinetin.

grünen, Parenchymgewebe. Die Knöllchen der NES-Kinetin-Kulturen sind außerdem kräftiger als die der NES-Kulturen durch die größere Zahl neugebildeter Parenchymzellen (Abb. 10).

Alle anderen Vitamine und Purine zeigten auch in Kombinationen keine besonders markanten Ergebnisse, so daß eine kurze Aufzählung der von der NES-Kontrolle abweichenden Resultate genügt.

NES und Adenin: Die Wurzel- und Knöllchenbildung wurde gegenüber der NES-Kontrolle leicht gehemmt.

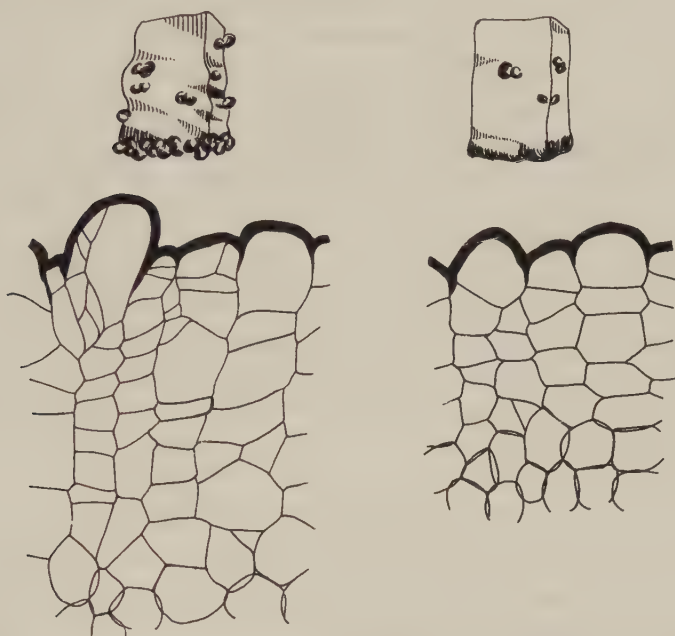


Abb. 10: Segment und Schnitt durch ein Knöllchen abseits der Leitbahnen bei einem Segment aus einer Kultur mit NES und Kinetin und einem Segment aus einer Kultur mit NES.

NES und Nicotinsäure: Gegenüber den NES-Kulturen zeigte sich eine leichte Förderung der Knöllchen- und Wurzelbildung. Die Wurzeln waren besonders kräftig entwickelt.

NES und Biotin: Die Wirkung gleicht weitgehend der reiner NES-Kulturen. Eine bemerkenswerte Reaktion zeigte jedoch diese Kombination bei der Kallusbildung. Mit steigender Biotinkonzentration nimmt, jeweils bei gleichbleibender NES-Konzentration, die Häufigkeit der Kallusbildung ab. Bei der höchsten Biotinkonzentration sinkt sie bis auf 17,4 % ab, während die NES-Kontrolle 100 % Kallusbildung aufweist.

Eine Kombination NES-IAN-Biotin wirkt ebenso.

NES, Adenin und Kinetin: Die Wurzel- und Knöllchenbildung lag beträchtlich unter den Werten der Kombination NES und Kinetin. Gegenüber NES-Kulturen war jedoch eine Förderung festzustellen.

NES, Nicotinsäure und Guanin-HCl: Bei STICHEL (1959) wirkte diese Kombination bei *Cyclamen* sproß- und wurzelbildend. Bei der Kartoffel ergab sie

jedoch das gleiche Ergebnis wie die Kombination NES und Nicotinsäure. Die Wurzelbildung wurde allerdings etwas stärker gefördert.

NES wurde mit Nicotinsäure, Guanin-HCl, Biotin, Adenin und Kinetin in ihren für die Kartoffel günstigsten Konzentrationen (60, 1, 1, 20, 1 mg/l) kombiniert. Dabei wurde die Knöllchenbildung deutlich gehemmt. Wurzelbildung blieb ganz aus. Selbst die Kallusbildung erreichte mit 61 % längst nicht den üblichen Wert von 100 % bei 1 mg/l NES. Der einzige hierbei entstandene Sproß ist wieder mehr als Zufallstreffer zu werten. Die gleiche Kombination wurde, unter den für die Wurzelbildung optimalen Bedingungen, angesetzt, also im Dunkeln auf zuckerlosem Nährmedium, und zwar vergleichend mit NES und IES. Bei den Kombinationen mit 1 mg/l NES wurde mit 4,8 Wurzeln pro Segment die höchste Wurzelbildung bei „Eva“ erreicht. Die Knöllchenbildung entsprach dem im April zu erwartenden Wert. Alle Kombinationen mit IES zeigten eine kräftige Knöllchenbildung aber keine Wurzel.

Vergleich einiger Kartoffelsorten

Wie bereits anfangs erwähnt wurde, sollten auch verschiedene Kartoffelsorten vergleichsweise getestet werden, ob es Sorten gibt, die eine höhere Wurzel- und Sproßbildungsrate aufweisen als „Eva“. Aus der großen Zahl von Kartoffelsorten wurden deshalb wahllos folgende herausgegriffen: „Lerche“, „Holländer Erstlinge“, „Magna“, „Ackersegen“, „Benedikta“, „Saskia“, „Sieglinde“, „Agnes“ und eine Sorte „x“ (wahrscheinlich „Augusta“ oder „Optica“). Die Sorten „x“ und „Lerche“ wurden Ende Oktober, die übrigen Sorten im November mit NES kultiviert. Ein Vergleich aller Sorten ist trotzdem annähernd zulässig, da die beiden erstgenannten Sorten vor der Kultivierung auch bereits eine mehrwöchige Lagerung hinter sich hatten. Die untersuchten Sorten zeigten ein recht unterschiedliches Verhalten und konnten danach in folgende Typen eingeteilt werden:

- I Gut wurzelbildende Sorten, wie „Holländer Erstlinge“, Sorte „x“ und auch „Eva“. Die Wurzelbildungsrate nimmt in der angegebenen Reihenfolge der Sorten ab. Eine Sonderstellung nehmen hier die „Holländer Erstlinge“ ein, die mit 6,9 Wurzeln pro Segment bei 10 mg/l NES mit Abstand die höchste Wurzelbildungsrate erreichte. Ein Segment erzielte dabei mit 84 Wurzeln einen Wert, der in die Größenordnung der Wurzelbildung beim Meerrettich (WURM 1960) reicht.
- II Gut sproßbildende Sorten wie „Magna“. Hier fällt das Maximum der Sproßbildung mit einem Minimum der Knöllchenbildung zusammen. Es ist im Prinzip also die gleiche Erscheinung wie bei der vorwiegend Wurzeln

bildenden Sorte „Eva“, bei der häufig Maxima der Wurzelbildung mit Minima der Knöllchenbildung zusammentrafen.

III Gut knöllchenbildende Sorten wie „Magna“, „Holländer Erstlinge“ und „Agnes“. Die Menge der Knöllchenbildung sinkt wieder in der angegebenen Reihenfolge ab. „Agnes“ bildete bei diesem Ansatz weder Sprosse noch Wurzeln.

IV Sorten, die weitgehend indifferent bleiben wie „Ackersegen“. Nur bei 1 und 10 mg/l NES wurde eine geringe Anzahl von Knöllchen gebildet.

Diese Typen treten selten ganz rein auf. Sie bezeichnen nur das dominierende Verhalten der betreffenden Sorten. Es ist auch durchaus möglich, daß eine Sorte mehrere Typen vertritt, wie zum Beispiel „Magna“, die gut Sprosse und Knöllchen bildet, oder „Holländer Erstlinge“, die gut Wurzeln und Knöllchen bilden.

Mit „Magna“, einer Sorte, die Sprosse zu bilden vermag (Typ II) wurden einige Parallelversuche zu denen der Sorte „Eva“ angesetzt, um festzustellen, ob die Sproßbildung mit den gleichen Methoden gesteigert werden kann wie die Wurzelbildung.

Wuchsstoffe

NES, IES und IAN induzierten bei „Magna“ in gleicher Weise wie bei „Eva“ Knöllchen. In Dunkelkultur auf zuckerlosem Medium war die Knöllchenbildung bei allen drei Stoffen nahezu gleich, auch wenn noch eine schwache Abstufung in der Reihenfolge NES, IAN und IES zu erkennen ist. Im Gegensatz zu „Eva“ vermochte nur NES die Wurzelbildung zu steigern. Bei IAN blieb sie ganz aus.

Vitamine und Purine

Adenin, Nicotinsäure und Guanin-HCl hemmen die Knöllchenbildung leicht. Die Kombination NES, Adenin, Biotin und Nicotinsäure steigerte die Knöllchenbildung etwas bei höheren NES-Konzentrationen. Die Wurzelbildung wurde nicht beeinflußt. NES, Adenin und Kinetin hemmte die Knöllchenbildung, steigerte aber die Wurzelbildung deutlich bei 1 mg/l NES und 20 mg/l Adenin. NES, Nicotinsäure und Guanin-HCl hemmte im Gegensatz zu „Eva“ die Knöllchen- und Wurzelbildung.

„Magna“ und „Eva“ auf Extrakten

Da neben den Wuchsstoffen für die Organbildung wahrscheinlich noch organendifferenzierende und organodeterminierende Stoffe nötig sind, könnte die Möglichkeit bestehen, auch diese Stoffe, ähnlich wie die Wuchsstoffe, von

einem Gewebe auf ein anderes zu übertragen. Zu dieser Frage wurden folgende Versuche angesetzt:

- a „Magna“, die sproßbildende Sorte, wurde auf einem Extrakt von „Eva“ einer wurzelbildenden Sorte, kultiviert.
- b „Eva“ wurde auf einem Extrakt von „Magna“ kultiviert.
- c „Eva“ wurde auf einem Extrakt des gut sproß- und wurzelbildenden Meerrettich (WURM 1960) kultiviert. Zur Gewinnung des Extraktes wurden die Kartoffelknollen bzw. der Meerrettich fein zerrieben, mit destilliertem Wasser versetzt und die dabei entstehende Lösung vom Gewebebrei abgepreßt. Dieser Extrakt wurde der Nährlösung, etwas abweichend von einer bei CHAPMAN (1956) beschriebenen Methode, vor der Nachsterilisation im Autoklaven, zugesetzt. Auf einen Liter Nährlösung kam der Extrakt von 200 g des extrahierten Gewebes. Außerdem wurde der Nährlösung NES von 0,01 bis 10 mg/l zugesetzt. Eine Versuchsreihe ohne Wuchsstoff und eine Reihe ohne Wuchsstoff und ohne Extrakt dienten als Kontrollen.
- a Bei „Magna“, die auf einem Extrakt von „Eva“ kultiviert wurde, setzte die Wurzelbildung bereits bei 1 mg/l ein und erreichte mit 1,1 Wurzeln pro Segment einen nahezu gleichen Wert, wie bei optimalen Bedingungen für die Wurzelbildung, das heißt im Dunkeln auf zuckerlosem Medium. 10 mg/l NES brachten keine weitere Steigerung. Der einzige Sproß wurde bei 1 mg/l gebildet. Die Knöllchenbildung wurde nur wenig gefördert.
- b Bei „Eva“, die auf einem Extrakt von „Magna“ kultiviert wurde, blieb die erwartete Sproßbildung aus. Die Knöllchenbildung wurde nur unwesentlich beeinflusst. Dafür überstieg die Wurzelbildung mit 2,7 Wurzeln pro Segment sogar die Wurzelbildungsrate im Dunkeln ohne Zucker. Das Maximum lag wieder bei 1 mg/l NES.
- c Der völlig fremdartige Extrakt des Meerrettichs schädigte die Kartoffel-segmente von „Eva“ in keiner Weise. Sproßbildung trat jedoch nicht auf und auch die Knöllchenbildung wurde nicht gefördert. Mit 0,55 Wurzeln pro Segment bei 1 mg/l NES lag die Wurzelbildung aber immer noch über dem Wert der NES-Kontrolle von 0,33 Wurzeln pro Segment. Bemerkenswert bei diesem Versuch verlief die Kallusbildung. Bereits auf wuchsstofflosem Nähragar mit Meerrettichextrakt betrug die Kallusbildung fast 50 % und nahm mit steigender NES-Konzentration zu.

Allen Versuchen gemeinsam war neben einer mehr oder weniger erhöhten Wurzelbildung die durchweg sehr kräftige Ausbildung aller Wurzeln.

Diskussion

Die bei der Kartoffel zu beobachtenden Reaktionen lassen sich in ungeordneten Kallus einerseits und differenzierte Gewebe andererseits, also Wurzeln, Sprosse und Knöllchen einteilen. Die Knöllchen sind allerdings nur als begrenzt organisierte Bildungen zu betrachten. Zwei Gruppen lassen sich bei den Knöllchen unterscheiden, solche mit reichlich Leitbündelelementen und solche, die keine Leitbündelelemente enthalten, wie sie ausschließlich bei den Kinetinkulturen auftraten. Die Organisationsstufe der Knöllchen ist jedoch nicht vergleichbar mit derjenigen von Sprossen und Wurzeln. Die Knöllchen stellen also Kunstprodukte dar, die sich aber trotzdem gut für die Auswertung der Kulturen eignen, da sie, wie Sprosse und Wurzeln, eine ausgeprägte Abhängigkeit von der Wuchsstoffkonzentration zeigen.

Die Reaktionen der Kartoffelsegmente waren von der Jahreszeit abhängig (vgl. STICHEL 1959). Sprosse traten nur im Frühjahr auf. Für eine genauere Untersuchung der Sproßbildung ist die Sorte „Eva“ deshalb ungeeignet. Wurzeln und Knöllchen wurden nahezu die ganze Zeit von Oktober bis Mai gebildet (Abb. 4). Die Wurzelbildung erreicht nach einer Anfangshemmung bereits im November ihr Maximum, um dann langsam abzunehmen, wobei im Februar nochmals ein weniger stark ausgeprägtes Maximum erreicht wird. Wesentlich unregelmäßiger verläuft die Knöllchenbildung. Sie treten im November überhaupt erst auf, erreichen im Dezember ihr erstes Maximum und zeigen im Februar und März ein Minimum, in der Zeit also, wo die Wurzelbildung ihr zweites Maximum erreicht, beziehungsweise Sprosse erstmals in größerer Anzahl auftreten. Das zweite Maximum der Knöllchenbildung im April liegt noch höher als das erste. Danach fallen die Kurven wieder ab. Durch das Wuchsstoff-Hemmstoffsystem der Kartoffel, das durch eine Reihe von Untersuchungen (FUNKE-SÖDING 1948/49; MEYER 1950/51; BAUMEISTER 1950/51; POHL 1952; VARGA und FERENCZY 1956 u. a.) bereits relativ genau bekannt ist, läßt sich aber nur die Anfangshemmung bei der Wurzel- und Knöllchenbildung erklären, die mit der Zeit der größten Hemmstoffkonzentration in der Kartoffelknolle zusammenfällt. Da in der übrigen Zeit der Wuchsstoff in der Knolle im wesentlichen nur noch lokalen Verschiebungen unterliegt, können alle weiteren Schwankungen der Kurven durch den Wuchsstoff der Knolle nicht mehr befriedigend erklärt werden. Wichtig ist der Wuchsstoff-Hemmstoffgehalt jedoch für die Kallusbildung. Sie unterliegt, ebenso wie die Wurzel- und Knöllchenbildung, einer Anfangshemmung, bei der, neben einem geringen prozentualen Anteil an Segmenten mit Kallus, auch typische Hemmungsformen des gebildeten Kallus auftreten (Abb. 6), die die Hemmstoff-

wirkung deutlich zeigen. Von Dezember an ist der Kallus wohl ausgebildet (Abb. 6) und unterliegt keinen weiteren Schwankungen.

Eine interessante jahresrhythmische Erscheinung taucht beim Vergleich von Dunkelkulturen mit NES und IES auf. Dunkelkulturen mit NES verhielten sich ähnlich wie Hellkulturen mit NES, nur mit dem Unterschied, daß die Zahl der Knöllchen und Wurzeln in Dunkelkultur etwas höher war als in Hellkultur. Diese Erscheinung ist, wie bereits erwähnt, auf die erhöhte Wachstumsstoffabscheidung der Segmente im Dunkeln (v. GUTTENBERG 1956) zurückzuführen. Auch bei IES-Kulturen tritt dieser Unterschied bei Licht und im Dunkeln zutage. Außerdem stellt man aber fest, daß das sehr geringe Wurzel- und Knöllchenbildungsvermögen der IES gegenüber der NES bei Dunkelkultur im Herbst allein existiert. Im Frühjahr sind in Dunkelkultur die Unterschiede zwischen NES und IES weitgehend verwischt. Dieses Verhalten der IES zeigt deutlich, daß die IES viel empfindlicher gegen die nativen Hemmstoffe der Kartoffel ist, als die NES. Das zeigt, daß diese beiden Stoffe trotz ihrer gleichen, oder zumindest sehr ähnlichen, Wirkungsweise an verschiedenen Stellen im Stoffwechsel angreifen müssen.

Die mit Tixit behandelten Kartoffeln zeigen einen gleichen Rhythmus wie die unbehandelten Knollen, die Kurven sind aber stark gedämpft. Außerdem steigt die Kallus- und Wurzelbildung erst einen Monat später an als die der unbehandelten Kulturen. Demzufolge müssen auch die knolleneigenen Hemmstoffe einen Monat später abgebaut werden. Der Abbau der Hemmstoffe wird wahrscheinlich von den Augen und Keimen gesteuert, da sich gegen sie die Angriffe des Tixit wenden (vgl. NULTSCH 1958).

Mit Rindite sollte der gegenteilige Effekt von Tixit erreicht werden, nämlich die Keimruhe vorzeitig aufzuheben. Rindite erwies sich als wirksam für eine vorzeitige kräftige Kallusbildung. Unwirksam oder nur bedingt wirksam ist Rindite für die Sproß-, Wurzel- und Knöllchenbildung. Die Tatsache, daß nach dreitägiger Lagerung der Knollen nach dem Begasen bereits vereinzelt Wurzeln auftreten, kann man dadurch erklären, daß Rindite, ebenso wie Tixit, zunächst nur auf die Augen einwirkt und diese erst stoffwechselphysiologische Veränderungen im Knolleninneren hervorrufen.

Ein jahresrhythmisches Verhalten zeigt auch, wie bei STICHEL (1959) an *Cyclamen*, der Pilz- und Bakterienbefall der Kartoffelkulturen. Das sprunghafte Ansteigen des Befalls von Mai an (70–100 % Ausfälle) läßt erkennen, daß um diese Zeit ein Mangel an knolleneigenen Antibiotika auftritt.

Eine in gewisser Weise dem Jahresrhythmus ähnliche Erscheinung trat bei den mit H_2O_2 behandelten Kulturen auf. Nachdem mit H_2O_2 die knollen-

eigenen Wuchsstoffe zerstört worden waren, bildeten die behandelten Segmente mit künstlich zugesetztem Wuchsstoff nur Kallus aus. Da die unbehandelten Kulturen jedoch Knöllchen hervorbrachten, müssen bei der H_2O_2 -Behandlung die für ein organisiertes Wachstum notwendigen Stoffe oxydativ zerstört worden sein. Auch hier zeigt sich wieder, daß für ein organisiertes Wachstum der Wuchsstoff nur bis zu einem gewissen Grade wichtig ist, daß daneben aber noch ganz andere Substanzen wichtig sind.

Neben der Jahreszeit beeinflussen auch die Wuchsstoffe die Kallusbildung. Ganz allgemein läßt sich dabei sagen, daß die Kallusbildung mit steigender Wuchsstoffkonzentration ebenfalls zunimmt. Die verschiedenen Wuchsstoffe erweisen sich dabei als unterschiedlich in ihrer Wirksamkeit bei der Kallusbildung.

Auch die Temperatur wirkt modifizierend auf die Kallusbildung ein. Während bei Zimmertemperatur ein kräftiger Kallus im Substrat selbst entsteht, bildet sich bei $5^{\circ}C$ ein über das ganze Segment verteilter feiner Kallus.

Ganz entscheidend wird jedoch der Kallus vom Zuckerhaushalt des Segments mitbestimmt. Der Einfluß des Zuckers ist dem des Wuchsstoffes gleichwertig an die Seite zu stellen, da auf zuckerlosem Nährmedium selbst bei hohen Wuchsstoffkonzentrationen die Kallusbildung nahezu vollständig unterdrückt wird. Gleichzeitig macht sich eine Konkurrenz zur Wurzel- und Knöllchenbildung bemerkbar. Eine Deutung dieser Konkurrenzerscheinung soll jedoch erst bei der Besprechung der Organbildung gegeben werden.

Schließlich ist für die Kallusbildung auch die Segmentgröße selber von Bedeutung. Die starke Kallusbildung bei den kleinen Segmenten ist darauf zurückzuführen, daß sich hier im Segment relativ mehr Wuchsstoff und Glucose anreichern kann, als in den großen. Bei den großen Segmenten verhält sich die resorbierende, d. h. die in das Substrat eingetauchte, Oberfläche zum Gesamtvolumen des Segments wie 1:3,3. Das entsprechende Verhältnis bei den kleinen Segmenten beträgt 1:2.

Ebenso wie die Kallusbildung ist auch die Organbildung vom Wuchsstoff abhängig. Bei niederen Wuchsstoffkonzentrationen und bei den Kontrollen überwiegt die Sproßbildung, bei höheren Konzentrationen überwiegt die Wurzelbildung. Die Kartoffel verhält sich in dieser Beziehung ähnlich wie *Cyclamen* (STICHEL 1959). Die Grenze zwischen sproßbildenden und wurzelbildenden Konzentrationen ist hier allerdings nicht so scharf gezogen wie bei *Cyclamen*. Bei der Kartoffel kommt es durchaus vor, daß bei ein und derselben Konzentration sowohl Sprosse als auch Wurzeln entstehen können. Die verschiedenen Wuchsstoffe zeigten sich auch bei der Organbildung als verschieden wirksam. Von den untersuchten Wuchsstoffen waren für die Organbildung nur

2,4-D und Tryptophan wirkungslos. Einen erneuten Hinweis auf die unterschiedliche Empfindlichkeit gegen die nativen Hemmstoffe von NES und IES erbrachte ein Vergleich von Hell- und Dunkelkulturen. Die Tatsache, daß die IES-Wirkung im Vergleich zur NES-Wirkung im Licht relativ schwächer ist als bei Dunkelheit, läßt sich nur so erklären, daß bei Hellkulturen nativer Wuchsstoff in geringer Menge gebildet wird, der zwar die IES hemmt, die NES-Wirkung aber kaum beeinflussen kann.

Die Wuchsstoffkombination NES mit IAN und IES mit IAN wirkten nicht wie die Addition der Einzelwuchsstoffe (SÖDING 1952, STICHEL 1959). Meist ist die Zahl der Organe reduziert, wenn man mit dem am stärksten wirkenden der beiden Einzelwuchsstoffe vergleicht. Auffallend ist nur bei 1 mg/l NES die mit steigenden IAN-Gaben stark zunehmende Wurzelbildung. Damit im Zusammenhang steht wohl auch wieder die bei steigenden IAN-Gaben reduzierte Knöllchenzahl.

Alle untersuchten Vitamine und Purine, außer Kinetin und Biotin, hinterließen keine ausgeprägte Wirkung. Kinetin allein blieb auch wirkungslos. In Dunkelkultur und besonders mit NES kombiniert, regt es jedoch die Knöllchenbildung stark an. Bei den Kombinationen mit 1 mg/l NES kommt es zusätzlich zu einer beträchtlichen Wurzelbildung (Abb. 10). Trotzdem kann dem Kinetin keine differenzierende Eigenschaft zugesprochen werden, da die Knöllchen häufig frei von Leitbündelelementen sind. Wohl aber könnte man die Wirkungsweise des Kinetins als organisierend bezeichnen, da nicht der ungeordnete Kallus, sondern Knöllchen und Wülste auf festem, parenchymatischem Gewebe dominieren.

Die Kombinationen mit Biotin zeichnen sich durch Unterdrückung des Kallus aus. Für die Wirkungsweise des Biotins besteht die Möglichkeit, daß das Biotin durch Übergang in eine Enolform den Wuchsstoff esterartig bindet und diesen damit zu Reaktionsorten leitet, die mit der Kallusbildung nichts zu tun haben. Allerdings fehlt bislang noch der chemische Nachweis eines solchen Wuchsstoff-Biotinesters. Jedenfalls haben wir hier wieder eine Konkurrenzerscheinung vor uns, bei der der Wuchsstoff in erster Linie an Biotin gebunden wird und erst in zweiter Linie zur Kallusbildung bereitsteht.

Alle anderen Kombinationen von Wuchsstoffen mit Purinen und Vitaminen ergaben höchstens eine etwas erhöhte Knöllchen- und Wurzelbildung. Die gebildeten Organe machten in der Regel einen etwas kräftigeren Eindruck als bei den Wuchsstoff-Kulturen.

Der Einfluß des Zuckergehalts der Nährlösung auf die Organbildung ist ebenso groß wie auf die Kallusbildung. Sinkt der Zuckergehalt auf 0, dann

steigt die Organbildung kräftig an, während die Kallusbildung unterdrückt wird. Steigt der Zuckergehalt, so wird auch mehr Kallus gebildet, auf Kosten der Organe. Wir haben hier eine ähnliche Konkurrenzerscheinung vor uns wie sie bereits beim Biotin erwähnt wurde, oder wie sie bereits mehrmals für Knöllchen und Organe beschrieben wurde. Bei der Konkurrenz zwischen Kallus und Organen liegt eindeutig die Glucose als steuernde Substanz vor. Bei der Erklärung dieser Erscheinung können uns die von KLÄMBT (1961) gefundenen Wuchsstoff-Glucoseverbindungen weiterhelfen. KLÄMBT konnte nachweisen, daß sowohl NES als auch IES mit Glucose verestert und auch, nach vorheriger Oxydation des Kerns, glucosidisch gebunden werden können. Die Bedeutung dieser Wuchsstoff-Glucoseverbindungen ist noch nicht völlig geklärt, jedoch ist die Annahme KLÄMBTS (1961) sehr wahrscheinlich, daß zumindest das Wuchsstoffglucosid die Funktion hat, die für den Zellwandbau nötige Glucose bereitzustellen. Für die Kulturen auf zuckerlosem Medium bedeutete das, daß die Kallusbildung aus Mangel an momentan verfügbarem Wandbaumaterial ausbleiben muß, oder nur in sehr geringem Maße einsetzen kann. Der durch den Wuchsstoff trotzdem stark aktivierte Stoffwechsel ermöglicht nun die Synthese der für die Organbildung nötigen Stoffe. Diese Stoffe müßten mindestens eine Komponente für die Ausdifferenzierung von Leitgewebe enthalten und eine Komponente, die die Determinierung zu Sproß oder Wurzel durchführt.

Wie kompliziert die Vorgänge bei der Organbildung verlaufen müssen, macht ferner noch die Kombination von Adenin, Kinetin, Guanin-HCl, Biotin, Nicotinsäure und NES deutlich. Bei dieser Kombination kam es auf zuckerhaltigem Nährmedium zu einer vollständigen Auslöschung der Wirkung von NES und Kinetin. Man wäre geneigt, eine antagonistische Wirkung der Einzelkomponenten zueinander anzunehmen. Benutzt man jedoch die gleiche Kombination für eine Dunkelkultur auf zuckerlosem Nährmedium, dann kommt es zu einer, für die Kartoffel extremen, Steigerung der Wurzelbildung. Auch diese Erscheinung ist nur durch Konkurrenz verschiedener Reaktionsketten im Plasma zu erklären. Sind Zucker und Biotin anwesend, dann wird nahezu der gesamte Wuchsstoff durch diese beiden Komponenten gebunden, und es kommt zu einer mittelstarken Kallusbildung. Fehlt der Zucker, dann wird nur Wuchsstoff von Biotin gebunden und der verbleibende Wuchsstoff, vermehrt durch den in der Dunkelheit vom Segment abgeschiedenen, kann mit den übrigen Vitaminen und Purinen organisierte Gewebe aufbauen.

Welche Stoffe jeweils an den verschieden hohen Organisationsstufen, die an der Kartoffel zu beobachten sind, mitwirken oder maßgeblich beteiligt sind, kann erst in einigen Fällen gesagt werden. Dadurch, daß die verschieden hohen

Organisationsstufen teilweise nebeneinander auftreten, kann aber die Organbildung in mehrere Stufen gegliedert werden. Als niedrigste Organisationsstufe entsteht Kallus, der durch das Zusammenwirken von viel Wuchsstoff und Glucose hervorgerufen wird. Unterdrückt wird die Kallusbildung durch Biotin, da hier vermutlich eine Konkurrenzreaktionskette im Plasma abläuft. Als nächsthöhere Organisationsstufe sind die leitbündelfreien Knöllchen und Wülste der Kinetinkulturen zu betrachten. Es wird nicht eine ungeordnete Zellteilung induziert, sondern das Kinetin greift soweit organisierend ein, daß ein festgefügtes Parenchymgewebe entsteht. Als dritter Schritt ist die Ausdifferenzierung von Leitelementen in den Knöllchen anzusehen. Die Stoffe, die für deren Ausbildung maßgebend sind, sind bislang unbekannt. Die Ausbildung von Leitgewebe findet immer in den Anlagen statt, die zu Sprossen und Wurzeln werden. Ob diese Anlagen sich nun zu einem Sproß oder einer Wurzel weiterentwickeln, wird erst in einem weiteren Determinierungsschritt entschieden. Wann diese determinierenden Stoffe angreifen, ist offenbar gleichgültig. Wenn auch in der Regel differenzierende Stoffe, die für die Ausbildung von Leitelementen verantwortlich sind, und determinierende Stoffe, die die Art des Organs festlegen, gleichzeitig wirksam werden, wenn also Sprosse und Wurzeln entstehen, können die Determinatoren aber auch erst dann eingreifen, wenn bereits differenzierte Gewebe vorliegen, zum Beispiel, wenn aus einem Knöllchen Wurzeln oder Sprosse austreiben. Die determinierenden Stoffe machen auch die häufig beobachtete Konkurrenz zwischen Knöllchen einerseits und Wurzeln und Sprossen andererseits erklärlich. Werden nur differenzierende Stoffe wirksam, dann bilden sich nur Knöllchen; kommen aber noch determinierende Stoffe hinzu, so bilden sich jetzt auch Wurzeln und Sprosse, und zwar auf Kosten der Knöllchen. Weitgehend unklar bleibt noch die Tatsache, daß bei niederen Wuchsstoffkonzentrationen vorwiegend Sprosse, bei hohen vorwiegend Wurzeln entstehen. Als eine mögliche Erklärung kommt vielleicht eine Konkurrenzreaktion in Frage, wie sie bereits beim Zucker und Biotin nachgewiesen wurde. Man könnte annehmen, daß bei niederen Wuchsstoffkonzentrationen allein Sproßdeterminatoren entstehen, während es bei höheren Konzentrationen zur Bildung von Wurzeldeterminatoren kommt, wobei dann gleichzeitig die Entstehung von Sproßdeterminatoren unterdrückt wird.

Bei allen organbildenden Vorgängen müssen letzten Endes auch die Gene ihren Einfluß geltend machen, so daß der Wuchsstoff und die anderen Wirkstoffe nur als Auslöser oder Beschleuniger für Stoffwechselvorgänge wirken, die auch natürlich bereits ablaufen können. Der Einfluß der genetischen Konstitution der Kartoffel auf die Organbildung wird deutlich beim Vergleich verschiedener Kartoffelsorten. Sie zeigen zum Beispiel, daß die Ergebnisse von

WURM (1960) nicht ohne weiteres reproduzierbar waren, da eine genaue Sortenangabe fehlt. Die Kartoffelsorten unterscheiden sich nicht nur in ihrer Fähigkeit Knöllchen, Wurzeln und Sprosse zu bilden, wonach die Typeneinteilung erfolgte, auch auf Kombinationen von Wirkstoffen reagierten die Sorten unterschiedlich. Das zeigte der Vergleich von „Eva“ und „Magna“ bei der Kombination NES, Nicotinsäure, Guanin-HCl.

Die Kulturen auf Extrakten von Kartoffeln und Meerrettich sollten einen Hinweis darauf geben, ob die angenommenen differenzierenden und determinierenden Stoffe in anderen Geweben die gleichen Wirkungen zeigen. Bei „Magna“ wurde mit einem Extrakt von Eva tatsächlich eine bedeutende Steigerung der Wurzelbildung erzielt. „Eva“ auf einem Extrakt von „Magna“ ergab jedoch keine erhöhte Sproßbildung. Das liegt möglicherweise daran, daß auch die Sorte „Magna“ zur Versuchszeit (Mai) nicht mehr Sprosse zu bilden vermag. Aus den Kulturen mit Meerrettichextrakt kann man nur mit Sicherheit darauf schließen, daß der Meerrettich bedeutend mehr Wuchsstoff enthält als die untersuchten Kartoffelsorten, da die Kallusbildung bereits sehr deutlich auf wuchsstofflosem Nähragar mit Meerrettichextrakt einsetzt.

Herrn Professor Dr. E. HAUSTEIN danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und sein stetes Interesse für ihren Fortgang. Herrn Professor Dr. J. SCHWEMMLE sei für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am Botanischen Institut der Universität Erlangen gedankt, sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft für finanzielle Unterstützung.

Summary

1. Potato tubers of the species „Eva“ were cultured after a method, described by WURM (1960). For comparison, other species were also taken into culture.
2. Besides the evaluation of the cultures by sprouts and roots, they were further characterized by protuberances („Knöllchen“) which presumably represent an undifferentiated primary stage of the finished organs.
3. The seasonal behaviour of normal resting potato tubers and those which were inhibited by „Tixit“ were compared.
4. NAA, IAA, IAN, 2,4-D and tryptophane were compared in their effect of producing callus, protuberances, roots and sprouts.
5. NAA was examined in its capacity to differentiate and to determine organs.
6. For the formations of roots, optimal conditions of culture could be found.
7. Among the examined vitamins and purins, Kinetin was especially effective when it was combined with NAA. Biotin suppressed the formation of callus.
8. A comparison with other species showed, that the formation of organs depends on the species. The species were classified into several types.

Literatur

- APPEL, O.: Zur Kenntnis des Wundverschlusses bei Kartoffeln. Ber. d. Deutschen Bot. Ges. **24**, 118—122 (1906).
- BAUMEISTER, G.: Wuchs- und Hemmstoffe in der Knolle und im Kraut gesunder und abbaukranker Kartoffelpflanzen. *Planta* **38**, 683—741 (1950/51).
- CHAPMAN, H. W.: Continuous Growth of Exised Potato Root Tips. *Amer. Journal of Bot.* **468—471** (1956).
- DETTWEILER, CHR.: Zusammenhänge zwischen Austreiben und Atmung bei der Kartoffelknolle. I. Mitteilung. Die Hemmung des Austreibens durch Fermentinhibitoren, insbesondere Urethane. *Planta* **41**, 214—239 (1952/53).
- FALUDI, B.: Die Wirkung von Glutathion und 2,4-D auf das Wachstum der Gewebekulturen von Kartoffeln. *Naturwissenschaften* **43**, 280—281 (1956).
- FISCHNICH, O. und F. HEILIGER: Die Kartoffel — Bildung, Erhaltung, Verwertung ihrer Inhaltsstoffe. *Angew. Bot.* **33**, 49—70 (1959).
- FRANKE, W.: Vitamin C-Gehalt von Pflanzen in Abhängigkeit von der Temperatur und das Verhältnis Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure unter bes. Berücksichtigung von gelagerten Kartoffeln. *Planta* **49**, 345—388 (1957).
- FUNKE, H. und H. SÖDING: Über das Wuchsstoff-Hemmstoffsystem der Haferkoleoptile und der Kartoffelknolle. *Planta* **36**, 341—370 (1948/49).
- GOLDACRE, P. L. und W. BOTTOMLEY: A Kinin in apple fruitlets. *Nature* **184**, 555—556 (1959).
- GRAHL, A. und H. GRIMM: Beeinflussung der Keimruhe von Gerstenkörnern durch Chemikalien. *Naturwissenschaften* **46**, 336 (1959).
- GUTTENBERG, H. v. und G. SEGELITZ: Der Einfluß von Licht und Dunkelheit auf Wurzelwachstum und Wurzelbildung. *Planta* **28**, 156—157 (1938).
- GUTTENBERG, H. v. und G. MEINL: Über die Veränderung der Wasserpermeabilität von Kartoffelknollen während der Lagerzeit und durch Cumarin. *Planta* **43**, 571—575 (1954).
- GUTTENBERG, H. v. und K. ZETSCHKE: Der Einfluß des Lichtes auf die Auxinbildung und den Auxintransport. *Planta* **48**, 99—134 (1956).
- GUTTENBERG, H. v.: Der heutige Stand der Wuchsstoff-Forschung. *Umschau Heft* **1**, 7—10 (1958).
- HEMBERG, T.: The Effect of Glutathion on the Growth-Inhibiting Substances in Resting Potato Tuber. *Physiology Plant* **2**, 24—36 (1949).
- HENGST, K.-H.: Untersuchungen zur Physiologie der Regeneration in der Gattung *Streptocarpus* Lindl. I. Wirkungsweise einiger Substanzen auf die Regenerationsprozesse. *Zeitschr. f. Bot.* **47**, 306—335 (1959).
- HÖLZL, J. und E. BANCHER: Über die Eiweißkristalle von *Solanum tuberosum*. *Österr. Bot. Zeitschr.* **105**, 385—407 (1958).
- KANDLER, O. Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, α -Naphthylessigsäure, Natriumfluorid und Vitamin B₁ auf den Stoffwechsel in vitro kultivierter Maiswurzeln. *Planta* **42**, 304—348 (1953).
- KAUPPERT, M.: Über das Abschlußgewebe von *Cyclamen persicum*. *Zeitschr. f. Bot.* **46**, 383—414 (1958).
- KLÄMBT, H. D.: Wachstumsinduktion und Wuchsstoffmetabolismus im Weizenkoleoptilzylinder. III. und IV. Mitteilung. *Planta* **57**, 339—353 (1961) bzw. 391—401 (1961).
- LIBBERT, E.: Die Regulation des Wurzelwachstums durch synthetische und endogene Inhibitoren. *Planta* **50**, 25—40 (1957).

- LIBBERT, E.: Wechselwirkungen bei verschiedenen synthetischen Auxinen bei Keimungsversuchen. Biol. Zentralbl. **78**, 502—518 (1959).
- LIBBERT, E. und G. BALLIN: Umsetzung des Indol-3-acetonitrils in verschiedenen Pflanzen. Naturwissensch. **46**, 532—533 (1959).
- MACIEJEWSKA-POTAPCZYK, W.: Influence of Kinetin, β -indoleacetic acid and gibberellic acid on nuclease activity of beanhypocotyls. Nature **184**, 557 (1959).
- MONTFORT, C. und H. FÖCKLER: Licht und Atmung bei Licht- und Dunkelkulturen, grünen und farblosen Organen. Planta **28**, 515—534 (1938).
- MAYER, L.: Wachstum und Organbildung an in vitro kultivierten Segmenten von *Pelargonium zonale* und *Cyclamen persicum*. Planta **47**, 401—446 (1956).
- MELCHIOR, G. H.: Über den Abbau von Indolderivaten. Planta **50**, 262—290 (1957).
- MEYER, E.: Über den Wuchsstoff-Hemmstoffgehalt gesunder und abbaukranker Kartoffelknollen. Planta **38**, 213—232 (1950/51).
- NULTSCH, W.: Untersuchungen über den Einfluß von Keimhemmungsmitteln auf Kartoffelgewebe. Angew. Bot. **32**, 27—44 (1958).
- NULTSCH, W.: Versuche zum Nachweis von Isopropyl-N-phenylcarbamat (IPC) an und in behandelten Kartoffelknollen. Angew. Bot. **33**, 10—18 (1959).
- POHL, R.: Wuchsstoff-Hemmstoffproblem höherer Pflanzen. Naturwissensch. **39**, 1—8 (1952).
- REINERT, J. und E. FORSTMANN: Untersuchungen über das Auxin der Maiskoleoptile. Planta **52**, 623—628 (1958/59).
- REINERT, J.: Morphogenese in pflanzlichen Gewebekulturen. Endeavour **82**, 85—90 (1962).
- SEELIGER, I.: Über die Bildung wurzelbürtiger Sprosse und das Wachstum isolierter Wurzeln. Flora **148**, 218—254 (1959).
- SHANTZ, E. M. und P. C. STEWARD: Investigations on the Growth and Metabolism of Plant Cells: Growth of Potato Tuber Tissue in Culture: The synergist Action of Coconutmilk and some other synergist Growth-regulating Compounds. Anals of Bot. N.S. **19**, 49—58 (1955).
- SÖDING, H.: Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952.
- STICHEL, E.: Gleichzeitige Induktion von Wurzeln und Sprossen an vitro kultivierten Gewebestücken von *Cyclamen persicum*. Planta **53**, 293—317 (1959).
- VARGA, M. B. und L. FERENCZY: Effect of the Development of the Growthsubstances in Potato Tubers. Nature **178**, 1075 (1956).
- WIEDOW-PÄTZOLD, H. L. und H. v. GUTTENBERG: Weitere Untersuchungen über den nativen Wuchsstoff. Planta **49**, 588—597 (1957).
- WURM, G.: Vergleichende Untersuchungen über Wachstum und Organbildung an Segmenten pflanzlicher Speicherorgane bei Kultur in vitro. Flora **149**, 43—76 (1960).
- YOUSSEF, E. und O. KIERMAYER: Zur Photolyse von Indol-3-acetonitril. Planta **49**, 607—611 (1957).

Lebenslauf

Am 6. Februar 1936 wurde ich in Hamburg als Sohn des Ingenieurs Emil Fellenberg geboren. 1939 siedelten wir nach Neustadt bei Coburg über, wo ich von 1942 bis 1946 die Volksschule und von 1946 bis 1953 die städtische Realschule besuchte. 1953 wechselte ich an die Oberrealschule „Ernestinum“ in Coburg über und legte dort 1956 das Abitur ab. Im Sommersemester 1957 schrieb ich mich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen für die Fächerverbindung Biologie, Chemie, Erdkunde ein. Im Herbst 1962 bestand ich das Staatsexamen für das Höhere Lehramt.

